Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Göttingen
Direktor: Prof. Dr. H. Martius

# Über die Dispositionsrate des Benzpyrenkarzinoms bei avitaminotisch, hypervitaminotisch und normal ernährten Versuchstieren mit Berücksichtigung von Vitamin A und Vitamin E

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt am 1. April 1938
von

Hans Engel
aus Wiedermuth/Thür.

Carl Nieft, Buchdruckerei und Verlag, Bleicherode am Harz
1938

Dekan: Professor Dr. Krantz.

Berichterstatter: Professor Dr. J. Wehefritz.

Mitberichterstatter: Professor Dr. H. Martius.

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Mai 1938.

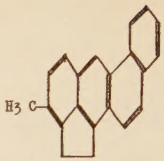
Diese Dissertation ist gleichzeitig als Broschüre
im Verlag Carl Nieft, Bleicherode a. H., erschienen

Mit der Entdeckung chinesischer Forscher, daß sich durch wiederholte mehrhundertmalige Teerpinselungen am Kaninchenohr Krebs erzeugen läßt, begann für die experimentelle Karzinomforschung eine fruchtbare Arbeitsepoche. Man gewann jetzt nicht nur neue Einblicke in die Pathogenese mancher Berufskrebse, wie z. B. des Schornsteinfeger- und Schneeberger Lungenkarzinoms, sondern vor allem eröffneten sich aussichtsreiche Arbeitsmethoden, die eine planmäßige Erforschung der spezifischen Erregerstoffe ermöglichten.

Es lag auf der Hand, daß man bei der Suche nach den karzinogenen Faktoren vor allem Kohlenwasserstoffverbindungen des Steinkohlenteers ins Auge faßte. Man erkannte sehr bald, daß nicht der Teer als solcher krebserregend wirkte, sondern daß aus ihm fraktionierbare Stoffe von bestimmter Molekularstruktur die spezifische Fähigkeit zur Hervorrufung von Karzinomen in sich tragen. Beim Versuch, solche Stoffe zu isolieren, zeigte es sich, daß die höchstsiedenden Fraktionen des Teeres besonders erhöhte karzinogene Wirkung aufwiesen. Man fand die wirksamsten Faktoren vor allem in über 300 bzw. 400° siedenden Fraktionen, die frei von niedrig siedenden Kohlenwasserstoffen, von Basen und Phenolen waren. Die erste Isolierung chemisch eindeutiger karzinomerzeugender Verbindungen aus den hochsiedenden Teerfraktionen gelang Morton und Branch durch die Darstellung des Tetraphenylbenzen und des Tetraphenylmethan. Beide Kohlenwasserstoffe erwiesen sich bei der epikutanen Verabreichung im Tierversuch als spezifisch karzinogen. Nachdem man nun in schneller Folge eine ganze Reihe wohldefinierter tumorgener Kohlenwasserstoffe erkannt hatte, ergab sich aus der vergleichenden Wirksamkeitsprüfung im Tierversuch, daß der krebserregende Effekt nicht nur an einen bestimmten Formeltypus gebunden war, sondern sich durch die Einführung bestimmter Substituenten in spezifischer Weise steigern ließ. Die Regelmäßigkeit, mit der bösartige Tumoren durch Benzanthrenderivate mit 5,6 Substituenten im Gegensatz zu Substituenten in anderen Stellungen hervorgerufen wurden, beweist, wie eng die Spezifität der krebserregenden Eigenschaft umschrieben ist. Den systematischen Arbeiten von Cook, Hewett und Hieger verdanken wir heute die Entdeckung hochpotenzierter Erregerstoffe vom Benzanthrentypus, von denen das 1,2 Benzpyren und das Methylcholanthren in der experimentellen Karzinomforschung besonderes Interesse gefunden haben.

Formelbilder.

1,2 Benzpyren




Methylcholanthren

Das Benzpyren und seine karzinogene Wirkung.

Zu unseren eigenen, später zu beschreibenden Untersuchungen, verwandten wir das 1,2 Benzpyren, das uns durch die liebenswürdige Vermittlung von Herrn Prof. Domagk, Elberfeld, zugänglich gemacht wurde. Das 1,2 Benzpyren der englischen und amerikanischen Forscher ist identisch mit dem 1,2 Benzpyren der deutschen Literatur. Nach Cook findet sich das 1,2 Benzpyren zumindest zu 0,0003% im Steinkohlenteer. Nach Winterstein, Vetter und Schön soll man aus dem Steinkohlenpech mehr als das Fünffache dieser Menge gewinnen können. Alle genannten Autoren, sowie Maisin, Liégeois, Rondoni, Corbelliani und andere bestätigen übereinstimmend die Eigenschaft des Benzpyrens bei der weißen Maus, nach wiederholtem Betupfen der Haut eindeutige Karzinome zur Entwicklung zu bringen. Neuerdings konnte Domagk zeigen, daß eine 0,5%ige Lösung von Benzpyren in Benzol, den weißen Mäusen durch Bepinselung auf die Nackenhaut gebracht, relativ schnell und bei einem großen Prozentsatz der Versuchstiere bösartige Neubildungen hervorrief. Indem der Autor in einem Parallelversuch mit je 50 Mäusen eine Gruppe der Versuchstiere mit Gasteer, die andere mit 0,5%iger Benzpyrenlösung in Benzol behandelte, ergab sich folgender Effektunterschied:

Nach 3 Monaten, nach insgesamt 50 Pinselungen, zeigten die Teertiere an den Pinselstellen nur Haarlosigkeit und einzelne kleine Warzen, während die Benzpyrentiere, die nur 30 mal gepinselt waren, große höckerige, zum Teil blumenkohlartige Tumoren zeigten.

Die Veränderungen im Verlauf der Benzpyrenbehandlung sind den durch Teer hervorgerufenen sehr ähnlich. Zuerst kommt es zu einem Haarausfall, die Haut wird trocken, schilfert ab und wird krustig, dann treten kleine Warzen auf. Die Entwicklung der Tumoren scheint besonders schnell vor sich zu gehen, wenn kleine Ulzerationen im Bereich der Pinselungsstelle vorhanden sind. Verwendet man 0,3% Benzpyren in Benzol, so treten in der Regel die ersten Warzen und Tumoren nach 50-maliger Pinselung auf, vereinzelt früher. Die meisten Tumoren entwickelten sich erst nach Aufhören der Pinselung.

Domagk beschreibt den Verlauf eines weiteren Versuchs mit 180 Mäusen, deren Nackenhaut mit 0,3% Lösung von Benzpyren in Benzol dreimal wöchentlich gepinselt wurde. Nach insgesamt 50-maliger Applikation in der Zeit von etwa 4 Monaten nach Beginn des Versuchs ergab sich folgendes Bild: 31 Tiere zeigten haarlose Stellen und krustige Haut. 21 Tiere wiesen einzelne kleine Warzen auf, 17 Mäuse reagierten mit multiplen kleinen Warzen. Bei 13 nahmen die Warzen die Größe eines Reiskorns an, 4 weitere Versuchstiere hatten an den Applikationsstellen große

Hauthörner, 10 andere waren mit Tumoren von Erbsen- bis Haselnußgröße behaftet. Schließlich fanden sich bei 10 Mäusen kleinere, bei 10 anderen große ulzerierende Tumoren. Von den insgesamt 180 behandelten Tieren hatten also 116 auf den Benzpyrenreiz lokal reagiert, wobei offen gelassen werden muß, ob die geringen Hautreaktionen als karzinomatös angesprochen werden dürfen. Die ausgedehnteren Neubildungen und Ulzerationen erwiesen sich bei der feingeweblichen Untersuchung als Plattenepithelkarzinome. Bemerkenswert ist die hohe Mortalität der behandelten Versuchstiere, die schon, wie wir auch in unseren eigenen Versuchen immer wieder bestätigen mußten, nach wenigen Pinselungen in Erscheinung trat. Da für das Benzpyren seiner chemischen Natur nach praktisch nur organische Lösungsmittel, niedrig siedende Kohlenwasserstoffe, Benzol oder auch Äther in Frage kommen, blieb das Studium der karzinomatösen Reaktion im wesentlichen zunächst auf die Haut beschränkt. Nach Winterstein sollte jedoch die geringe Wasserlöslichkeit ausreichen, um ebenfalls durch epikutane Benzpyrenverabreichung bei den Versuchstieren karzinomatöse Reaktionen hervorzurufen. Neuerdings ist es Windaus gelungen, durch molekulare Abwandlung des Benzpyrens diesen Stoff in eine weitgehend wasserlösliche Form überzuführen. Dieser Fortschritt wird eine erweiterte Applikationsmöglichkeit des Benzpyrens mit sich bringen und dadurch auch die histologische Reaktionsweise anderer Körperregionen oder Organe der Untersuchung zugänglich machen.

## Hauptteil.

### Fragestellung und Versuchsanordnung:

Es entspricht einer weit verbreiteten Ansicht, daß für die Entstehung eines Karzinoms außer dem lokal irritierenden Erregungsfaktor konstitutionelle Ursachen, auch das Lebensalter und die allgemeine Stoffwechsellage des Organismus in Betracht zu ziehen sind.

Insbesondere ist ein Kausalzusammenhang zwischen Krebsentstehung und Stoffwechselgeschehen dann gegeben, wenn das karzinogene Agens in unmittelbare chemische Beziehung zu einem obligaten Verdauungsprodukt, zu einem Hormon oder Vitamin tritt. Dieses ist in der Tat bei einigen karzinogenen Kohlenwasserstoffen der Fall. Die nahen Beziehungen, die z. B. das Methylcholanthren zu den Sterinen, Vitaminen, Gallensäuren und Sexualhormonen einnimmt, müssen den Verdacht erwecken, daß im Organismus unter bestimmten Bedingungen aus solchen physiologischen Produkten krebserzeugende Substanzen entstehen können. Von dieser Vorstellung ausgehend, orientiert sich die experimentelle Karzinomforschung in letzter Zeit immer mehr von der Morphologie zur Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels.

Die Sicherheit, mit der sich der experimentelle Kohlenwasserstoffkrebs erzeugen läßt, weist von vornherein auf eine Versuchsanordnung hin, die es gestattet, unter bestimmten Stoffwechselbedingungen die Krebsfestigkeit oder Krebsbereitschaft der Versuchstiere ins Auge zu fassen. Vorausgesetzt, daß man an einem gegebenen Tiermaterial die normale Dispositionsrate z. B. für den Benzpyrenkrebs kennt, ließe sich an der Quote der krebserkrankten Versuchstiere, je nach der Anordnung des Experiments auf die krebsfördernde oder hemmende Wirkung bestimmter Stoffwechselfaktoren, Hormone oder Vitamine schließen.

In der von uns gewählten Versuchsanordnung sollten die beiden fettlöslichen Vitamine A und E hinsichtlich ihrer dispositionsfördernden oder -hemmenden Wirkung bezüglich des Benzpyrenkrebses berücksichtigt werden.

Wenn auch das Vitamin A oder seine Vorstufe, das Karotin, chemisch betrachtet, keine unmittelbare Beziehung zu den bekannten krebserregenden Substanzen hat, so haben wir es dennoch in unsere Betrachtung einbezogen, weil es wegen seiner spezifisch keratisierenden Wirkung, die ihm die Bezeichnung Epithelschutzvitamin eingebracht hat, für das Entstehen des Hautkarzinoms von Belang sein konnte. Wir haben in diesem Zusammenhang darauf Bedacht genommen, durch Vitamin A-arme Kost die Disposition zum Benzpyrenkrebs zu erhöhen. Im übrigen liegt im Schrifttum schon eine große Anzahl von z. T. widersprechenden Untersuchungen vor, die die Beziehung des A-Vitamins zur Pathogenese des Krebses zum Gegenstand haben.

Das Vitamin A ist ein Alkohol, entstanden von der Aufspaltung des Karotins. Es existieren 3 Karotine, die alle wirksam sind, doch ist das β-Karotin das wirksamere. Das Karotin wird als Provitamin bezeichnet, welches in der Leber durch die Karotinase aufgespalten wird. Neben dem Karotin besitzt auch das Xanthophyll Kryptoxanthin Vitamin-A-Wirkung; dieses Xanthophyll kommt im gelben Mais und im Eigelb vor.

Die Beziehungen zwischen Vitamin A und Krebs sind schon verschiedentlich untersucht worden und haben zu recht widersprechenden Resultaten geführt.

Gordonoff gibt über diese in den letzten Jahren erschienenen Arbeiten eine verdienstvolle Zusammenstellung, der wir im Wortlaut folgendes entnehmen:

„Nach Harde und Kobozieff wirkt Lebertran infolge seines A-Gehaltes hemmend auf das Tumorwachstum, auch soll durch Lebertranfütterung bei Mäusestämmen, die zu Spontantumoren neigen, die Zahl der Tumorträger gegen die Norm herabgesetzt sein. Umgekehrt regt nach Villara A-Entzug das Tumorwachstum an. Kuh, Clifford und Yale fanden A in kleineren Dosen ohne Wirkung, erst größere Dosen von 10 000 E. und mehr in Form von Karotin, das in der Leber zu A gespalten wird, verzögerten bei Mäusen das Tumorwachstum, wobei nach Ansicht der Autoren Vitamin A direkt auf den Tumor wirken soll. Ebenso schreibt Bisceglie dem Vitamin A einen das Wachstum von Tumoren hemmenden Einfluß zu. Bei A-frei ernährten Mäusen sollen die Tumoren rascher wachsen, auch soll die Lebensdauer dieser Tiere kürzer sein. Demgegenüber stellt Ihara fest, daß bei A-Überschuß in der Nahrung das Tumorwachstum gegenüber den Kontrollen mit A-armer Kost erhöht sei. Auch Fränkel und Gereb nehmen an, daß ein A-Überschuß das Angehen von Tumoren begünstige. Für einen das Wachstum begünstigenden Einfluß von A würde auch der hohe A-Gehalt rasch wachsender Tumoren sprechen, eine Beobachtung, welche von Vogt mitgeteilt wurde.

In seinen Untersuchungen wechselte Saiki vitaminfreie Kost mit einer Kost, die reich an Vitamin A war, ab. Bei so behandelten Tieren fand er spontan auftretende karzinomatöse Proliferationen. Er glaubt, daß das karzinomatöse Wachstum sich durch eine „Umstimmung des Körpers infolge einer bestimmten Diät ohne die Anwendung einer lokalen Reizwirkung" einstellen kann.

Im ferneren fanden Caspari und Ottensooser auf Grund von Ernährungsversuchen, daß reichliche Vitamin A-Zufuhr bei Fehlen von

Vitamin B das Geschwulstwachstum gegenüber der völlig vitaminfreien Diät nicht anzuregen vermag. Der Angelpunkt in der Vitaminreihe soll von der „Vitamin B-Schwelle" dargestellt werden, die zur Konstanthaltung der Gewichte von tumorfreien Tieren genüge. Ist dieses Niveau erreicht, so steigt das Tumorwachstum durch eine Vitamin-A-Zulage an, noch mehr aber durch eine weitere Vitamin-B-Zulage. Diese Autoren kommen zu dem Schluß, daß eine überreichliche Zufuhr von Vitamin A beim Schwellenwert von Vitamin B das Geschwulstwachstum steigern kann. In ihrer Diätvorschrift empfehlen sie denn auch keinen zu großen Überschuß an Vitamin A zu geben.

Dittmar gibt an, daß die Zugabe von Vitamin A zu einer Vitamin A-freien Kost die Impftumoren nicht wesentlich beeinflußt. Hingegen soll eine A-Zulage nach A-freier Vorfütterung deutlich das Tumorwachstum hemmen.

Zu recht interessanten Resultaten führten die von Matsudaira durchgeführten Untersuchungen. Er verbrachte kleine Gallensteine in die Gallenblase von Meerschweinchen nach besonderer Technik. Zu dem wurde eine Vitamin A-arme Kost gefüttert. Nach einer längeren Beobachtungszeit wurden Tumoren gefunden, die von ihm als Adenokarzinome bezeichnet sind. Entstehung und Wachstum dieser Tumoren waren durch wechselnde Zufuhr von Vitaminen — insbesondere von Vitamin A — beeinflußbar.

Ebenfalls mit Vitamin A (Vogan), welchem kolloidales Kupfer zugefügt wurde, machten Lustig und Wachtel Umschläge auf ulzerierte Karzinome. Dabei wurde an den Krebsgeschwüren zumeist eine auffällige Besserung beobachtet.

Aykroyd und Sankaran nahmen Gewebszüchtungsversuche vor, in welchen die Versuchstiere mit Vitamin A-armer Kost gefüttert wurden. Die Autoren konnten feststellen, daß das im Vitamin A-armen Plasma gezüchtete Gewebe ein sehr schlechtes Wachstum aufwies. (Zitiert nach Gordonoff und Ludwig.)

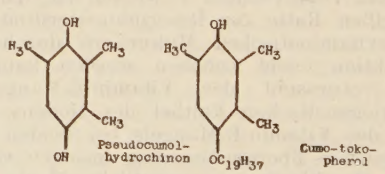
Das Vitamin E, bzw. seine Muttersubstanz, das Weizenkeimöl, ist ebenfalls in letzter Zeit bezüglich der Karzinogenese wiederholt Gegenstand der Untersuchung gewesen. Vom Vitamin E wissen wir, daß sein Fehlen in der Nahrung bei der weißen Ratte zur Resorptionssterilität führt, und daß die Fruchtbarkeit der avitaminotischen Muttertiere durch Weizenkeimöl und seine Vitamin-E-Fraktion leicht behoben werden kann. Beim avitaminotischen Männchen verursacht der Vitamin-E-Mangel charakteristische Störungen im spermiogenetischen Epithel des Hodens. So verschieden die Erscheinungsformen des Vitamin-E-Mangels bei beiden Geschlechtern sind, so liegt doch eine gewisse Übereinstimmung insofern vor, als der Vitamin-E-Mangel bei beiden Geschlechtern vermutlich auf ein Defizit an Nukleinsubstanzen, also auf ein Versagen des Kernmetabolismus, zurückgeführt werden kann. Es hat nicht an Experimenten gefehlt, dieser Hypothese nachzugehen, indem man versuchte, in Gewebszüchtungskulturen eine spezifisch zellstimulierende Wirkung des E-Vitamins zu prüfen. In der Tat ergaben Versuchsanordnungen dieser Art, daß die in Vitamin-E-haltigen Nährmedien entstandenen Kulturen gegenüber denen des Kontrollexperiments ein lebhafteres Wachstum aufwiesen. Wenn man auf Grund solcher Beobachtungen geneigt sein konnte, eine zellteilungsstimulierende Eigenschaft des E-Vitamins anzunehmen, so wird es verständlich, daß diesem Nahrungsfaktor neben anderen biologischen Reizstoffen bezüglich der Tumorgenese besondere Beachtung geschenkt wurde. So berichteten kürzlich L. C. Rowntree, J. Lansbury und A. Steinberg über das Entstehen von Sarkomen bei Ratten nach zusätzlicher Fütterung von rohem Weizenkeimöl. Bei

34 Versuchstieren sollen in 100% intra-abdominale Geschwülste entstanden sein, die sich histologisch als Spindelzellensarkome erwiesen. Nachuntersuchungen, die sofort nach Bekanntwerden dieser amerikanischen Angaben an der Universitäts-Frauenklinik zu Göttingen vorgenommen wurden. führten trotz größter Belastung der Versuchstiere mit Weizenkeimöl in keinem Fall zur Tumorbildung.

Severi hat den Einfluß von Vitamin E auf die Entwicklung des Adenokarzinoms der Maus untersucht. Indem der Verfasser Vitamin E-arme und Vitamin E-reiche Diät verwandte, konnte er feststellen, daß bei Einpflanzung des Tumors nach 1—2 Monaten, von Beginn der besonderen Diät an gerechnet, der Tumor bei den Männchen, die bei vitaminreicher Diät gehalten wurden, üppig wächst, während die Entwicklung gering ist, wenn die Diät vitaminarm war. Umgekehrt hat er bei den Weibchen eine stärkere Tumorentwicklung beobachtet, wenn die Diät arm an Vitamin war und ein gehemmtes Wachstum der Geschwulst, wenn eine Vitamin-E-reiche Kost gegeben wurde. Der Verfasser weist auf die Schwierigkeit hin, diese Ergebnisse zu deuten; er stellt die Hypothese auf, daß die Verschiedenheit des Verhaltens mit den Änderungen der Sexualfunktionen in Beziehung zu bringen sind, die bei diesem Ernährungstyp auftreten müssen.

In unmittelbare Beziehung zu unserer Fragestellung treten andere Untersuchungen von R. Severi. Der italienische Autor verfütterte, um den Einfluß des Vitamin E auf die Entwicklung der Teertumoren bei der weißen Ratte zu erforschen, eine Vitamin-E-reiche und eine Vitamin-E-arme Kost. Er stellte fest, daß das Vitamin E beim männlichen Tier den Widerstand gegen die allgemein toxische Wirkung des Teers herabsetzte und das Entstehen der Teertumoren begünstigte. Die Weibchen schienen durch das Weizenkeimöl sowohl gegenüber Allgemeinschädigungen durch die Teerbehandlung als auch gegen das Angehen der Tumoren selbst geschützt zu sein.

Neuerdings konnte im Windaus'schen Institut durch W. John die Konstitutionsformel eines Faktors der Vitamin-E-Gruppe aufgeklärt werden. Der aufgefundene Antisterilitätsfaktor Cumo-tokopherol ist ein Derivat des Pseudocumolhydrochinons.




Damit rückt das E-Vitamin in die Reihe zyklischer Kohlenwasserstoffe, eine Tatsache, die die Frage seiner karzinogenetischen Eigenschaft in neuem Licht erscheinen lassen könnte.

## Eigene Versuchsanordnung.

In der von uns gewählten Versuchsanordnung wurden 60 Ratten und 60 Mäuse verwendet.

Die Ratten bezogen wir deshalb in unsere Versuchsanordnung ein, weil aus den im Laboratorium der Göttinger Frauenklinik gesammelten Erfahrungen die Diätbehandlung der Tiere und deren Allgemeinreaktion auf Vitamin-E-Mangel bekannt war. Eine Versuchsgruppe von 20 Tieren wurde

bereits 3 Monate vor Versuchsbeginn mit der von Gierhake angegebenen Diät Vitamin-E-frei ernährt. Die synthetische Kost hat folgende Zusammensetzung:

| | |
|---|---|
| Kasein | 120 g |
| Reis- und Kartoffelstärke | 360 g |
| Rindertalg | 65 g |
| Kabeljau-Lebertran | 20 g |
| Salzgemisch | 24 g |

Die Salzmischung besteht aus:

| | |
|---|---|
| NaCl | 325 mg |
| $MgSO_4$ | 798 mg |
| $Na_2KPO_4$ | 520 mg |
| $Na_2HPO_4$ | 1431 mg |
| $CaHPO_4$ | 810 mg |
| Ferricitrat | 177 mg |
| Ca-Laktat | 1950 mg |

Der Vitamin-B-Komplex wird in Form von Brauereihefe zusätzlich verabreicht.

Erst nachdem einwandfrei bewiesen war, daß die E-Mangelkost zur Avitaminose geführt hatte, d. h. nachdem die Sterilität der Rattenweibchen feststand, wurde mit der Benzpyrenpinselung begonnen.

Eine andere Gruppe von Ratten wurde Vitamin-A-arm ernährt. Auch diese Versuchstiere wurden erst zu dem eigentlichen Experiment herangezogen, als sich die Zeichen des Vitamin-A-Mangels durch Xerophthalmie und Wachstumsstillstand bemerkbar machten. Zu Beginn der Benzpyrenbehandlung lebten noch 10 Ratten, es hatte also die Hälfte der Versuchstiere den Vitamin-E-Entzug nicht überstanden.

Um auch die Disposition zum Benzpyrenkrebs an normal ernährten Ratten festzustellen, wurde eine dritte Gruppe von 30 Tieren bei üblicher Stallfütterung gehalten und im übrigen der gleichen Benzpyrenbehandlung unterzogen.

Vor der Benzpyrenverabreichung wurden sämtliche Tiere in der Nackengegend rasiert. Mittels eines feinen Haarpinsels wurde ihnen an dieser Stelle jeden zweiten Tag eine 0,1%ige Lösung von Benzpyren in Äther appliziert. Wir bemühten uns, stets die gleiche Menge Benzpyren auf die rasierte Nackenhaut der Tiere zu bringen. Da sich das Haarkleid an der Pinselungsstelle immer wieder erneuerte, mußten die Rasuren, um eine ausreichende Benzpyrenapplikation unmittelbar auf die Haut sicherzustellen, häufig wiederholt werden.

Im Verlauf des Versuchs zeigten sich keinerlei Hautreaktionen, und die Tiere schienen auch sonst nicht unter Allgemeinschäden zu leiden.

Daß im Experiment mit Ratten keines der Versuchstiere trotz mehr als 90-maliger Pinselung reagiert hatte, konnte nur dadurch erklärt werden, daß diese Tierart offenbar gegenüber dem karzinogenen Reiz geschützt ist. Bis zur 95. Pinselung waren weder bei den makroskopischen noch mikroskopischen Untersuchungen der in der Zwischenzeit verstorbenen Tiere Veränderungen nachweisbar, die man im Sinne eines veränderten Zellwachstums hätte werten können. Nach der 95. Pinselung wurde der Versuch abgesetzt, die Tiere selbst jedoch weiter beobachtet. Bis zum heutigen Tage, das sind etwa 6 Monate nach Absetzen der Pinselung, zeigen die Ratten keinerlei Veränderungen. — Die Ergebnisse dieser Versuchsserie sind in der folgenden Tabelle nochmals zusammenfassend dargestellt.

| Versuchstier | Anzahl | Ernährung | Zahl der noch lebenden Tiere zur Zeit der 1. Pinselung | 20. P. | 40. P. | 60. P. | 80. P. | 95. P. | Befund |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ratte | 20 | normal | 20 | 20 | 17 | 16 | 15 | 12 | Keine Reaktion |
| „ | 20 | Vitamin A-frei | 10 | 10 | 7 | 7 | 6 | 6 | „ |
| „ | 18 | Vitamin E-frei | 18 | 18 | 16 | 16 | 15 | 15 | „ |

Wie auch aus dem Schrifttum der experimentellen Krebsforschung hervorgeht, scheint die Ratte im allgemeinen gegenüber dem experimentellen Krebs resistent zu sein, die weiße Maus dagegen eine besondere Krebsbereitschaft, vor allem gegenüber karzinogenen Kohlenwasserstoffen, zu besitzen. Wir mußten daher schon aus diesem Grunde dazu übergehen, die weiße Maus in unsere Versuchsanordnung einzubeziehen. Hierbei waren wir uns von vornherein über die versuchstechnische Schwierigkeit im Klaren und daß die Mäuse einer strengen Avitaminose nur in beschränktem Maße gewachsen sein würden. Wir setzten daher die Mäuse nicht wie die Ratten schon Monate vor Beginn der Pinselung auf die Mangeldiät, sondern erst mit Beginn der täglichen Benzpyrengaben. Als Parallelversuch wurden 20 Mäuse mit einer Vitamin-E-reichen Kost ernährt. Da die Tiere jedoch bald nach Beginn der Vitamin-E-Zufütterung das zusätzlich angebotene Weizenkeimöl zu verweigern begannen, also eine Hypervitaminose dadurch in Frage gestellt war, wurde das Weizenkeimöl in Tagesdosen von 0,5 ccm bis zu einer Gesamtdosis von ca. 15 ccm pro Tier subkutan injiziert. Auch diesmal wurden im Parallelversuch 20 Mäuse bei normaler Stallfütterung gehalten. — Die in dieser Versuchsanordnung erzielten Ergebnisse lassen sich tabellarisch folgendermaßen darstellen:

| Versuchstier | Zahl | Ernährung | Noch lebende Versuchstiere z. Zeit der 1. Pinselung | 10. P. | 20. P. | 30. P. | 40. P. | 45. P. | Befund nach der 10. P. | 20. Pinselung | 44. Pinselung | nach Absetzen der Benzpyrenbehandlung 4 Wochen später | 7 Wochen später |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Maus | 20 | normal | 20 | 20 | 18 | 9 | 8 | 7 | Haarverlust | Maus Nr. 17: Tumor beginnend | kein weiterer Tumor Nr. 17+: zerfallender Tumor Plattenepitheliom | Nr. 5+: Ca-verdächtiger Tumor Nr. 7+: Plattenepitheliom | Maus Nr. 8, getötet Plattenepithelkarzinom |
| Maus | 20 | Vitamin E-frei | 20 | 15 | 9 | 7 | 6 | 0! | sämtliche Tiere waren unmittelbar nach der 44 Pinselung ohne Hautreaktion eingegangen | | | | |
| Maus | 20 | per injectionem Weizenkeimöl (E-Hypervitaminose) | 16 | 12 | 8 | 8 | 7 | 6 | 14 Tiere eingegangen kein maligner Tumor | | Maus Nr. 3 „ „ 8 „ „ 7 „ „ 2 „ „ 9 „ „ 13 Tumoren | Maus Nr. 3+ „ „ 8+ Plattenepithelkarzinom | Maus Nr. 2, Nr. getötet große, fallende tenepit karzinom |

Für die Pinselungen verwendeten wir eine 0,5%ige Lösung von Benzpyren in Äther. Die Pinselungen wurden täglich vorgenommen.

Bereits nach der 8. Pinselung zeigten 2 der bei normaler Stallfütterung gehaltenen Mäuse an der Pinselstelle Haarverlust. Nach der 18. Pinselung war bei 20 Versuchstieren in einem Fall (Maus Nr. 17) ein Tumor zu sehen; 2 Tiere waren bereits eingegangen. Bis zur 44. Pinselung trat kein weiterer Tumor auf. Eine Neubildung (Nr. 17) wuchs nur langsam, zerfiel jedoch und entwickelte sich als ein blumenkohlartiges Geschwür. Die Untersuchung des experimentell erzeugten Tumors — die Maus war im Anschluß an die 44. Pinselung gestorben — erwies sich histologisch als ein Epitheliom. Nach der 44. Pinselung wurde der Versuch abgesetzt. 4 Wochen nach der letzten Pinselung gingen 2 weitere Mäuse (Nr. 5 u. Nr. 7) ein. Das histologische Bild der gereizten Hautstelle ergab abermals keinen absolut sicheren Beweis für das Bestehen eines Karzinoms. Wenn auch die Zellanordnung im Zellverband und die Verbreiterung des Epithels den dringenden Verdacht auf ein Karzinom erweckte, so war es doch bei kritischster Betrachtung nicht mit Sicherheit als solches anzusprechen. Dagegen zeigte die gleichzeitig eingegangene Maus, die ebenfalls 4 Wochen nach der 44. Pinselung verendet war, ein eindeutiges Plattenepithelkarzinom. Makroskopisch zeigten beide Tumoren trotz der verschiedenen Malignität keine Unterschiede. Man gewinnt, wenn man die malignen Hautreaktionen der noch weiter lebenden restlichen Versuchstiere verfolgt, den Eindruck, daß die 44. Pinselung die kritische Resistenzschwelle darstellt, von der ab eine karzinomatöse Hautentartung zu erwarten ist; denn alle Versuchstiere, die die 44. Pinselung überlebt hatten, zeigten bei der histologischen Prüfung der Reizstelle typische Plattenepithelkarzinome (Maus Nr. 3, Nr. 8 und Nr. 9).

Die folgenden Abbildungen zeigen die an der mit Benzpyren gereizten Nackengegend entstandenen Tumoren.

Die den Photogrammen (S. 12) entsprechenden 5 Mäuse wurden 7 Wochen nach Aufhören der Pinselung getötet. Die histologische Untersuchung ließ, wie bereits ausgeführt, eindeutige Plattenepithelkarzinome erkennen.

In der folgenden Versuchsgruppe, in welcher Vitamin-E-frei ernährte Mäuse in der üblichen Weise mit Benzpyren behandelt wurden, starben 14 Tiere vorzeitig. Bei den restlichen 6 überlebenden zeigte sich bis zur 43. Pinselung kein Tumor; sie gingen nach der 43. Benzpyrenapplikation ohne lokale Hautreaktion ein. Auch die mikroskopische Untersuchung ergab keinerlei Veränderungen, welche auf eine maligne Neubildung hinweisen konnten.

Die dritte Versuchsserie sollte uns über die Dispositionsänderung bei zusätzlicher Verabreichung von Vitamin-E-haltigem Weizenkeimöl im Sinne einer Hypervitaminose Aufschluß geben. Von den 20 zum Versuch angesetzten Mäusen überlebten 6 die 44. Pinselung. Bei den während der Pinselungen eingegangenen 14 Mäusen konnte in keinem Fall eine Tumorbildung festgestellt werden, jedoch hatten die meisten Tiere mit Entzündungserscheinungen an der Reizstelle reagiert. Vier Wochen nach Absetzen der Pinselungen gingen 2 weitere Versuchstiere ein. Sie zeigten beide makroskopisch einen großen Tumor, und die histologische Untersuchung erbrachte den einwandfreien Beweis eines Plattenepithelkarzinoms. Der überlebende Rest von 4 Mäusen wies 7 Wochen nach der letzten Pinselung im Nacken große zerfallende Tumoren auf, die sich histologisch als typische Karzinome darstellten.

Zusammenfassend stellt sich unser Ergebnis damit folgendermaßen dar:

In Übereinstimmung mit anderen Autoren mußten wir die Feststellung machen, daß sich die Ratte gegenüber dem experimentellen Benzpyrenkrebs als äußerst resistent verhält und damit als Versuchstier ungeeignet ist. Weder bei einem strengen Entzug von Vitamin E und Vitamin A, noch bei normaler Ernährungshaltung zeigten insgesamt 60 Versuchstiere nach 95 Pinselungen keinerlei verdächtige Hautreaktionen oder Allgemeinschädigungen.

In allen drei Serien unseres Experiments an Mäusen fiel ein großer Prozentsatz der Tiere einer allgemein schädigenden Benzpyrenwirkung bereits nach wenigen Pinselungen ohne Hautreaktionen zum Opfer und ging dadurch für eine vergleichende Beurteilung der verschiedenen Dispositionsquote verloren. Dieser Verlust wurde noch besonders erhöht, wenn die Versuchsanordnung eine zusätzliche avitaminotische Vorbehandlung der Versuchstiere erforderlich machte.

Bei einem Vergleich der allgemeinen vitalen Widerstandsfähigkeit gegen Benzpyren ergibt sich, daß eine normal ernährte Versuchsgruppe von Mäusen gegen die allgemeine Toxizität des Benzpyrens besser geschützt ist als solche Tiere, die unter einer Ernährungsbelastung mit Weizenkeimöl (Vitamin E) standen. Auch was den Einfluß dieser verschiedenen Ernährungshaltung auf die Bereitschaft zum Benzpyrenkrebs anbelangt, zeigten die normal ernährten Versuchstiere, mit der Einschränkung, daß es sich nur um eine kleine Zahl handelt, eine geringere Krebsdisposition als diejenigen, welche mit dem Weizenkeimöl zusätzlich gefüttert waren. Dieser Unterschied kam besonders in der Malignität der erzeugten Tumoren zum Ausdruck.

„Die Resistenzschwelle", d. i. die Zeit, nach der die ersten Anzeichen der Tumorbildung in Erscheinung treten, lag unabhängig von der Versuchsanordnung nach unseren Feststellungen bei der 44. Pinselung.

## Schrifttum.


Bloch und Widmer: Archiv für Dermatologie und Syphilis 152, 1936 S. 529—542.

Cook, Hewett und Hieger: Journ. Chem. Soc. London 1933, S. 395.

Cook: Chem. Beiträge zum Krebsproblem. Berichte der Deutsch-Chem. Gesellschaft Berlin Bd. 1, 69 1936, S. 38.

Cook und Mitarbeiter: Proc. Royal Soc. London 111, 1932 S. 477 und 489.

Cook: Deutsch-Chem. Gesellschaft 8. 2. 36.

Cook und Haslewood: Journ. of the Chem. Soc. London 1934, S. 430.

Cook und Hewett: Journ. of the Chem. Soc. London 1934, S. 365.

Domagk: Medizin und Chemie Bd. III: Abhandlungen aus den medizinisch-chemischen Forschungsstätten der I. G. Farben-Industrie A.-G.

Freund und Lustig: Wiener Klinische Wochenschrift 1933.

Gordonoff, T. und Ludwig, F.: Über die Bedeutung der Vitamine für die Krebstherapie: Pharmakologisches Institut und Engeridspital Bern, Zeitschrift für Krebsforschung 46, S. 73—104 1937.

Jamagiva i. Ichikava: Mitt. d. Med. Fakultät der Kaiserl. Univ. Tokio 1916, 17, 18, 19.

John, W.: Über das Cumo-tokopherol, einen neuen Faktor der Vitamin E-Gruppe, Hoppe-Seylers Zeitschr. für Phys. Chemie Bd. 250.

Kennaway und Hieger: Brit. Med. Journ. I, S. 1044, 1930.

Kennaway, Cook u. a.: Nature 135, S. 318, 1935.

Maisin und Liégeois: Compt. rend. Biol. Bd. 115, 1933.

Morton, Clapp und Branch: Sience 82, S. 134, 1935.

Rondoni und Corbelliani: Atti Ac. naz. Linzei Rend. 6, Bd. 21, Ref. Chem. Ztg. 1935.

Severi, R.: Pathologica Genova Bd. 27, 1935 und Bd. 26, 1934.

Schürch und Winterstein: Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiol. Chemie 236, S. 79, 1935.

Winterstein, Vetter und Schön: Ber. der Chem. Ges. 68, S. 1079, 1935.

Winterstein und Schön: Naturwissenschaften Jahrg. 22, S. 237, 1934.

Windaus und Rennhak: Hoppe-Seylers Zschr. für physiol. Chemie, Sonderdruck aus Bd. 249, Heft 5 und 6.

## Lebenslauf.

Am 17. September 1907 wurde ich, Hans Engel, als Sohn des Studienrats Karl Engel und seiner Ehefrau Nanni, geb. Pfeil, in Wiedermuth bei Ebeleben, Kreis Sondershausen in Thüringen, geboren. Ich besuchte nach der Grundschule das Gymnasium und die Aufbauschule in Sondershausen und bestand die Reifeprüfung Ostern 1929. Meine vorklinischen Semester verbrachte ich in Jena, Heidelberg und Marburg, wo ich im März 1934 die ärztliche Vorprüfung bestand. Während der klinischen Semester studierte ich in Göttingen und bestand hier die ärztliche Prüfung im April 1937. Augenblicklich bin ich an der Medizinischen Universitäts-Klinik zu Göttingen als Medizinalpraktikant tätig.